

소멸파(evanescent wave) 형광 이미지 분석을 통한 단일 세포 바닥면의 3차원 운동

이용구*, 이범준*, 진승완*, 유정열*

3D Motion Analysis of Single Cell Close Contact Using Evanescent Wave Illumination

Yongkoo Lee*, Beomjoon Lee*, Songwan Jin*, Jung Yul Yoo*

1. 서 론

세포의 이동은 혈류나 구조물에 의한 물리적 환경이나 반응 물질이 분포하는 생화학적 환경에 적응하는 과정이라고 알려져 있으며 염증 반응, 손상된 조직의 치유, 암세포의 전이 등과 같은 현상의 주요한 원인으로 여겨지고 있다.

이와 같은 세포의 이동을 관찰하는 전통적인 방법으로는 동일한 환경 아래 놓여진 세포들의 운동을 일정 시간 간격으로 관찰하여 이미지를 얻은 후, 이를 통해 세포의 몸체 중심이나 세포 가지 등의 특정 부위가 얼마의 속도를 가지는지를 영상처리를 통해 계산해 내는 기법이 있다. 하지만 이와 같은 방법으로는 대상 세포가 자발적, 능동적으로 이동을 하는 것인지 아니면 단순히 외부 유동과 같은 강제적인 힘에 의해서 밀리는 상태인지를 알아 낼 수가 없다.

이에 본 연구에서는 세포가 부착하고 이동할 때 세포 배면에서 돌출한 몇 개의 근접점만이 바닥과 만나고 있음에 착안하여 바닥 근처만을 가시화하고 세포 근접점 이동을 3차원적으로 정량화함으로써 세포의 능동적인 이동성을 단일 세포 단위에서 측정하고자 한다.

2. 본 론

2.1 원리

일반적인 형광 이미지는 세포의 몸체와 바닥 근접점을 구분할 수 없기 때문에 본 연구에서는 소멸파 형광을 이용하기로 하였다. 일반적으로 빛은 밀(密)한 매질에서 소(疎)한 매질로 입사될 때 특정 각도 이상

의 임계각에서 전반사가 일어난다. 아래의 식 (1)에서 임계각과 두 매질의 관계를 나타내었다.

$$\theta_c = \sin^{-1}(n_2/n_1) \quad (1)$$

이 때 전반사 되는 지점의 반대 방향 즉, 소한 매질 방향으로 급격히 감소하는 전자기파가 형성 되는데 이를 소멸파(evanescent wave)라고 한다. 이러한 소멸파는 입사되는 광원의 파장에 따라 수백 nm 영역 이내의 형광 물질만을 여기 시킬 수 있다. 따라서 근접점이 속하는 수십에서 수백 nm의 영역만을 가시화할 수 있게 된다.

$$I_z = I_0 \exp(-z/d) \quad (2)$$

$$d = \frac{\lambda}{4\pi n_1 \sqrt{\sin^2 \theta_i - (n_2/n_1)^2}} \quad (3)$$

그림 1(a)는 전반사가 일어나는 임계각(θ_c) 이상으로 입사된 빛이 전반사 되어 형성된 소멸파의 개념도이며 (b)는 높이에 따라서 감소하는 소멸파의 세기를 도식적으로 나타낸 그래프이다. 이 때, 소멸파의 세기는 식 (2)와 같이 변하며 투과 깊이는 식 (3)과 같이 주어진다. (이 때 λ 는 광원의 파장)

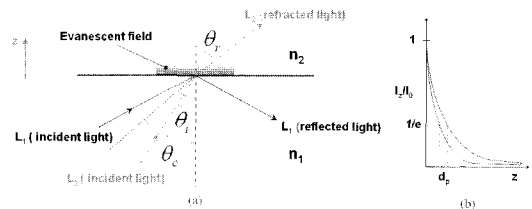


그림 1. (a) 전반사 현상과 소멸파의 형성, (b) 높이에 따른 소멸파의 세기 변화

* 서울대학교 기계항공공학부

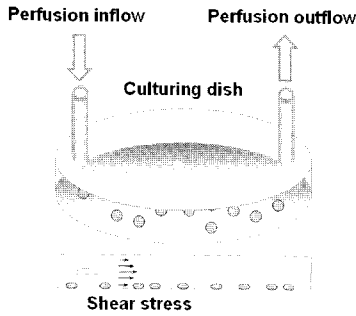


그림 2. 실험장치의 모식도

2.2 장 치

실험이 진행되는 일정 시간 동안 세포가 생명 활동을 유지하도록 적절한 양분과 온도, 이산화탄소의 농도를 유지시켜주는 배양 장치를 사용하였다. 이 과정에서 일정 방향의 유동이 흘러 세포는 전단력을 느끼게 된다.

본 실험에서 사용한 세포는 eGFP 단백질이 발현되도록 유도된 293세포(Human Kidney Cell)이다. eGFP는 488 nm의 광원에 여기 되어 508 nm의 빛을 발하는 형광 단백질이다. 그러므로 488 nm의 광원을 방출하는 Ar ion 레이저를 광원으로 사용하였다.

전반사 현상을 유도하기 위하여 프리즘을 사용하였다. 프리즘을 통과한 광원이 배양 장치 바닥의 유리판에서 연속적으로 전반사되면서 세포 바닥 방향으로 소멸파를 발생시킨다. 그림 2는 본 실험 장치의 모식도이다.

3. 결 론

소멸파에 의해 여기된 형광 이미지를 통하여 단일 세포 배면의 근접부가 바닥에 부착하는 과정을 가시화할 수 있었다. 뿐만 아니라 이렇게 얻어진 근접부의 밝기가 높이에 따라서 변하는 원리를 이용하여 수직 방향의 이동을 유추해 낼 수 있었다. 그림 3은 세포의 근접부가 바닥에 근접 부착하는 과정을 1분 간격으로 촬영한 영상이다. 세포의 근접부의 수평 운동과 밝기의 변화로 계산된 수직운동을 그림 4에서 3차원으로 나타내었다.

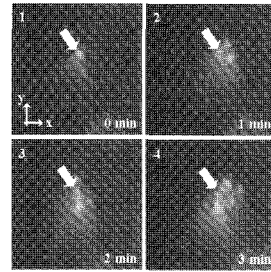


그림 3. 세포 근접점의 소멸파 형광 이미지

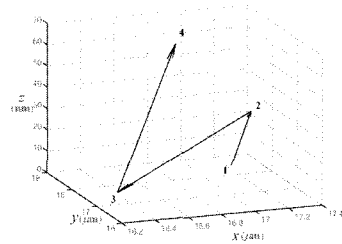


그림 4. 세포 근접점의 3차원 이동

후 기

본 연구는 한국과학재단 특장기초연구(R01 2005 000 10558 0)지원으로 수행되었음

참고 문헌

- (1) Axelrod, D., 1981, "Cell-substrate contacts illuminated by total internal reflection fluorescence," The Journal of Cell Biology, Vol. 89, pp.141~145.
- (2) Burmeister, J. S., Olivier, L. A., Reichert and W. M., Truskey, G. A. 1998, "Application of total internal reflection fluorescence microscopy to study cell adhesion to biomaterials," Biomaterials, Vol. 19, pp.307~325.
- (3) Newgreen, D. F., 1989, "Physical influences on neural crest cell migration in avian embryos: contact guidance and spatial restriction," Dev Biol., Vol. 131, No. 1, pp.136~148.
- (4) Toomre, D. and Manstein, D. J., 2001, "Lighting up the cell surface with evanescent wave microscopy," Trends in Cell Biology, Vol. 11, No. 7, pp.298~303.